



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

GRADUAÇÃO EM QUÍMICA INDUSTRIAL

MARIA LAURA REIS DE SOUZA

ÁCIDO HIALURÔNICO: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

UBERLÂNDIA - MG

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

GRADUAÇÃO EM QUÍMICA INDUSTRIAL

MARIA LAURA REIS DE SOUZA

ÁCIDO HIALURÔNICO: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Química Industrial, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Welington de Oliveira Cruz

UBERLÂNDIA - MG

2023

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S729
2023

Souza, Maria Laura Reis de, 1999-
Ácido Hialurônico: Uma revisão bibliográfica [recurso
eletrônico] / Maria Laura Reis de Souza. - 2023.

Orientador: Welington de Oliveira Cruz.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Química
Industrial.

Modo de acesso: Internet.

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Tecnologia química. I. Cruz, Welington de
Oliveira, 1966-, (Orient.). II. Universidade Federal de
Uberlândia. Graduação em Química Industrial. III.
Título.

CDU: 660.2

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



ATA DE DEFESA - GRADUAÇÃO

Curso de Graduação em:	Química Industrial				
Defesa de:	Trabalho de Conclusão de Curso - QQB056				
Data:	02/02/2023	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	17:30
Matrícula do Discente:	11711QID006				
Nome do Discente:	Maria Laura Reis de Souza				
Título do Trabalho:	Ácido hialurônico: uma revisão bibliográfica				
A carga horária curricular foi cumprida integralmente?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				

Reuniu-se em sala virtual, criada pela Coordenação do Curso de Química Industrial na plataforma Microsoft Teams, a Banca Examinadora, designada pelo Coordenador do Curso de Graduação em Química Industrial, assim composta: Prof. Dr. Wellington de Oliveira Cruz - **Orientador(a)**; Prof. Dr. Deividi Marcio Marques - Titular; Doutorando Marcus Vinicius de Sá Gonçalves da Silva - Titular e Prof. Dr. Sérgio Antônio Lemos de Moraes - Suplente.

Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa, Dr(a). Wellington de Oliveira Cruz, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao(à) discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(da) discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do curso.

A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a) Nota: 85 pontos
 Reprovado(a)

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Wellington de Oliveira Cruz**,
Professor(a) do Magistério Superior, em 03/02/2023, às 14:37, conforme



horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Deividi Marcio Marques, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/02/2023, às 14:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marcus Vinicius de Sá Gonçalves da Silva, Usuário Externo**, em 17/02/2023, às 17:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4211313** e o código CRC **C50D60C5**.

Este trabalho eu dedico ao meu grande amor,
Maria Lúcia, pois como já dizia Vinícius de
Moraes vó:

“É acorde que nunca finda
É coisa por demais linda
Teu nome, Maria Lúcia.”

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao nosso Pai Celestial, aos amigos de luz, mentores espirituais e as entidades do bem e do amor, que nos protegem, nos guiam e nos amparam nesta caminhada do plano terrestre.

Aos meus pais, Wilson e Andreza, que são meus braços, esquerdo e direito, meus guias e meu porto seguro. Que ensinaram o significado de amor, humildade, união e fraternidade. Seres iluminados que sempre me apoiaram, acreditaram em meus sonhos, em minha capacidade, não mediram esforços para me ajudar e me abraçaram nos momentos mais difíceis desta realização.

Aos meus irmãos, Marcos Paulo (in memoriam) e Ana Júlia, que são as razões de não desistir, de acreditar que consigo chegar aonde eu quero. São os motivos de minhas risadas e minhas saudades, que me fazem crer que estamos sempre unidos pela alma e que devemos aproveitar cada segundo como se fossem únicos, pois eles são.

Aos meus sobrinhos, Gabriel e Gael, que são as fortalezas para eu continuar, chegaram em momentos distintos e extremos, para me lembrarem a importância de prosseguirmos com nossa missão.

A minha amada avó Maria Lúcia (in memoriam), nossa matriarca, agradeço pelas orações e proteções, a quem dedico este trabalho, dedico a realização deste nosso sonho, a quem dizia que eu iria ficar doida, mas me disse para ficar firme que eu conseguiria e estou conseguindo. A quem nos ensinou o verdadeiro significado da vida, a orai e vigiai, a não desistir, que o que é nosso chega, que devemos, ter fé e paciência.

Aos meus tios, Anderson, Ana Carolina, Érica, Alida e Weverton, por sempre vestirem a camisa comigo, afinal se não fossem vocês, hoje eu não estaria aqui concretizando mais uma etapa e vendo os meninos crescerem.

A minha querida avó Maria Bárbara e tio Wesley, por todas as orações e proteções.

Aos meus primos, Yuri, Sophia, Pedro e meu cunhado Lucas, obrigada por todos nossos momentos, sejam de alegrias ou de aprendizados.

Aos meus amigos de graduação, Letícia, Daniel, Isabella, Gabriel e João Marcelo, por permitirem momentos mais leves durante este processo tão intenso de nossas vidas, vocês moram em meu coração.

Aos meus irmãos de outras mães, Amanda, Pedro, Bertolon, Lavínia, Rhenan e Souza Lucas, que mesmo com a distância e as diversidades da vida continuam torcendo por mim. Vocês estão sempre em minhas preces.

Ao meu orientador Prof. Dr. Welington, pela amizade e todas as disciplinas de orgânicas ministradas pelo mesmo, pelas conversas, balas e café. Por todo o ensinamento, moléculas e técnicas apresentadas. Pela paciência e compreensão durante toda a graduação, a quem levarei para toda vida e aceitou finalizar este processo comigo.

Aos professores e técnicos do Instituto de Química da UFU que tive oportunidade de conhecer.

A Universidade Federal de Uberlândia e Assistência Estudantil.

“Tudo tem seu apogeu e seu declínio.

É natural que seja assim, todavia, quando tudo parece convergir para o que supomos o nada, eis que a vida ressurge, triunfante e bela!

Novas folhas, novas flores, na infinita benção do recomeço!”

Chico Xavier

RESUMO

Esta breve revisão bibliográfica busca contextualizar a molécula de ácido hialurônico, este que é um biopolímero pertencente à família dos glicosaminoglicanos, constituído por unidades dissacarídicas de ácido D-glicurônico (GlcA) e N-acetil-D-glicosamina (GlcNAc) unidas por uma ligação glicosídica β -1,3. O polímero linear pode ser sintetizado tanto no organismo dos vertebrados quanto na cápsula de algumas bactérias e é rico em aplicações, já que sua molécula se destaca pelas características fundamentais que são a biocompatibilidade, higroscopicidade, viscoelasticidade, não imunogenicidade, sua capacidade de se degradar sem liberar toxicidades e sua ampla faixa de MM. Com a demanda crescente do mercado estético, a técnica de ácido hialurônico injetável vem se tornando cada vez mais desejável, uma vez que a mesma se trata de uma técnica segura e minimamente invasiva. Além disso, sua aplicabilidade vem se expandindo nas demais áreas da medicina, como a oftalmologia e traumatologia.

Palavras-chave: Ácido hialurônico, biopolímero, higroscopicidade, viscoelasticidade.

ABSTRACT

This brief bibliographic review seeks to contextualize the hyaluronic acid molecule, which is a biopolymer belonging to the glycosaminoglycan family, consisting of disaccharide units of D-glucuronic acid (GlcA) and N-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) joined by a bond β -1,3 glycoside. The linear polymer can be synthesized both in the organism of vertebrates and in the capsule of some bacteria and is rich in applications, since its molecule stands out for its fundamental characteristics, which are biocompatibility, hygroscopicity, viscoelasticity, non-immunogenicity, its ability to degrade without release toxicities and its wide range of MM. With the growing demand of the aesthetic market, the injectable hyaluronic acid technique has become increasingly desirable, since it is a safe and minimally invasive technique. In addition, its applicability has been expanding in other areas of medicine, such as ophthalmology and traumatology.

Keywords: Hyaluronic acid, biopolymer, hygroscopicity, viscoelasticity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - As três camadas cutâneas	12
Figura 2 - As subdivisões entre as camadas cutâneas	13
Figura 3 - (a) Estrutura do Ácido D- glicurônico, (b) Estrutura da N-acetil-D-glicosamina e repetidas unidades dissacarídicas formando o polímero linear (c) Ácido Hialurônico.....	14
Figura 4 - Estruturas de macromoléculas a) asfalto e b) AH	19
Figura 5 - Diferença entre homopolissacarídeos e heteropolissacarídeos	20
Figura 6 - Ligação glicosídica	21
Figura 7 - Glicose em projeção de Fisher e Perspectiva de Haworth	23
Figura 8 - Mecanismo de formação do AH	24
Figura 9 - Fluxograma do processo fermentativo	26
Figura 10 - Diferença de processo contínuo e processo batelada	27
Figura 11 - Gráfico da Curva de crescimento microbiano	28
Figura 12 - Fluxograma da extração de AH de origem animal	30
Figura 13 - Trabalho “Produção de ácido hialurônico: Modelagem do cultivo de <i>Streptococcus zooepidemicus</i> ”.....	30
Figura 14 - Aplicações biomédicas do AH	32
Figura 15 - Antes e depois da aplicação do AH em gel	34
Figura 16 - Anatomia do olho humano	35
Figura 17 - Diferença entre um joelho normal e um com osteoartrose	37

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Características dos Glicosaminoglicanos	21
-----------------------------------------------------------------	-----------

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIHPEC: Associação Brasileira da Indústria da Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos

AH: Ácido Hialurônico

EUA: Estados Unidos da América

GAGs: Glicosaminoglicanos

GlcA: Ácido D-glicurônico

GlcNAc: N-acetil-D-glicosamina

MDa: Mega Daltons

MM: Massa Molar

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

SFA: Substância Fundamental Amorfa

UV: Ultravioleta

SUMÁRIO

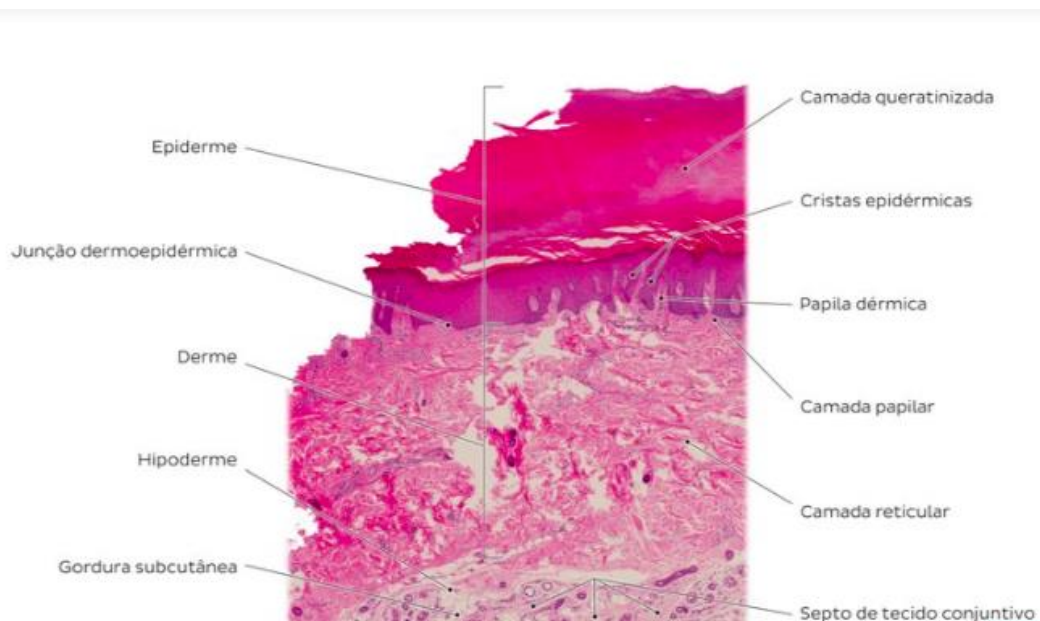
1. Introdução	12
2. Objetivos	15
3. Metodologia	15
4. Estudo de Literatura	16
4.1 Histórico do AH	16
4.2 Propriedades do AH	18
4.3 Estudo do Mecanismo	22
4.3.1. Mecanismo da Ligação Glicosídica	23
4.4 Obtenção do AH	25
4.4.1 Metodologias para obtenção do AH	29
I) Método de extração de origem animal	29
II) Rota fermentativa do <i>Streptococcus zooepidemicus</i>	30
4.5 Aplicações	32
4.5.1 Dermatologia	33
4.5.2 Oftalmologia	35
4.5.3 Traumatologia	37
5. Considerações Finais	38
6. Referências Bibliográficas	38

1. INTRODUÇÃO

A busca contínua pelos traços perfeitos faz com que a indústria da estética avance cada vez mais ^[1]. Segundo a Associação Brasileira da Indústria da Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC), em 2021, o Brasil se encontrava em 4º lugar no ranking mundial de Maior Mercado Consumidor, movimentando cerca de US\$ 22,9 bilhões, ficando atrás apenas dos EUA, China e Japão, respectivamente ^[2].

Atualmente existe um grande interesse em retardar o envelhecimento cutâneo, sendo a pele, o maior órgão do corpo humano, desempenhando funções essenciais para a vitalidade, atuando como barreira de defesa e regulação entre o meio interno e externo, responsável pela produção de melanina, síntese de vitamina D, regulação térmica, proteção contra traumatismo e identidade. Estima-se que esta faça parte de 16% do peso corporal humano, sendo constituída por três camadas: epiderme, derme e hipoderme (Figura 1) ^[3].

Figura 1: As três camadas cutâneas.

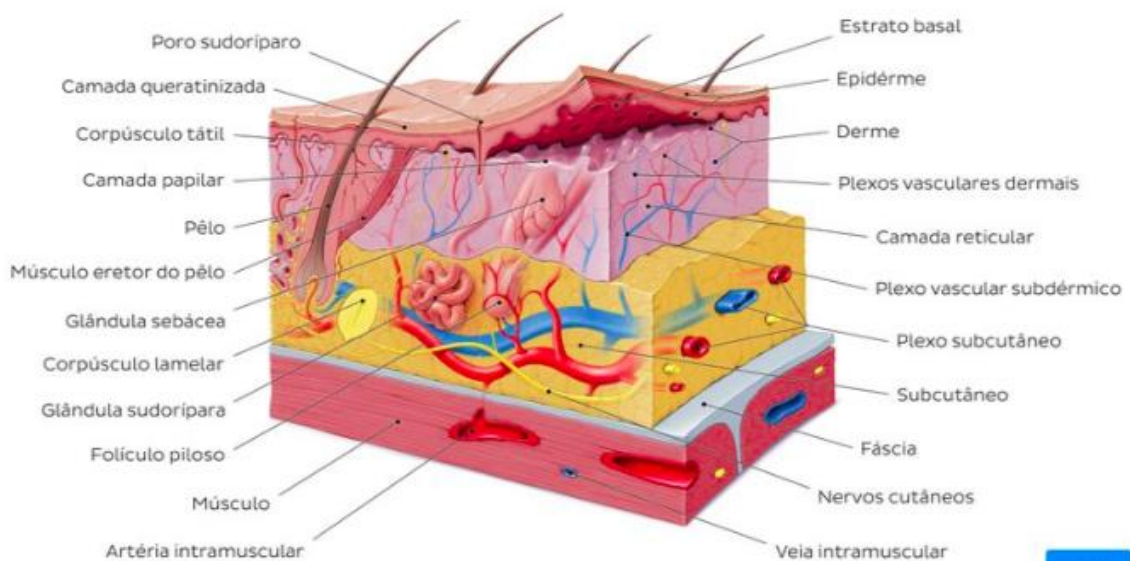


Fonte: Adaptado de <https://www.kenhub.com/pt/library/anatomia/sistema-tegumentar>

A camada superficial denominada epiderme é avascular, sendo composta basicamente de queratina, estratos germinativo, espinhoso, granuloso, lúcido e córneo. A camada intermediária é a derme, esta que atribui estrutura a pele, é vascularizada, formada por tecidos

conjuntivos densos, que se subdividem em derme papilar e reticular, os mesmos que são constituídos por aproximadamente 70% de água e 30% de fibras de colágeno, elastina, mucopolissacarídeos ou glicosaminoglicanos [4]. A última camada, designada como hipoderme é estruturada por tecidos adiposos e tecidos conjuntivos frouxos vascularizados, sendo responsável por armazenar energia, oferecer proteção mecânica e atuar como isolante térmico (Figura 2) [5].

Figura 2: As subdivisões entre as camadas cutâneas.



Fonte: Adaptado de <https://www.kenhub.com/pt/library/anatomia/sistema-tegumentar>

O envelhecimento da pele é um processo natural, propiciado por fatores intrínsecos (cronológico) e fatores extrínsecos (fotoenvelhecimento), sendo o primeiro de origem genética e hereditária, já o segundo relacionado à exposição cutânea à radiação UV, poluição atmosférica, tabagismo, entre outros [5].

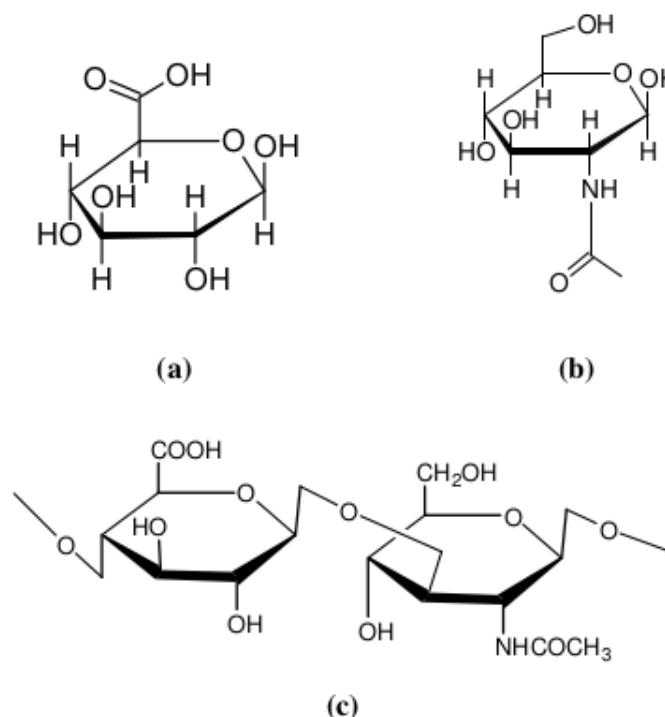
Embora envelhecer se trate de um processo inevitável, de princípios bioquímicos, esta é uma preocupação inserida cada vez mais precocemente na sociedade levando ao crescimento de procura pelo mercado estético, tendo um aumento na demanda por técnicas mais seguras e eficazes e menos invasivas, dentre estas técnicas se destaca o uso do ácido hialurônico injetável [6].

O ácido hialurônico é um polímero linear, sintetizado tanto no organismo dos vertebrados quanto na cápsula de algumas bactérias, sendo encontrado em alguns órgãos e em

todos os tecidos conjuntivos, como na pele, líquido sinovial, cordão umbilical, humor vítreo e cartilagem, desempenhando significativa função estrutural para os tecidos [7].

Classificado como um polissacarídeo, da família dos glicosaminoglicanos, o ácido hialurônico (AH) é constituído por unidades dissacarídicas de ácido D-glicurônico (GlcA) e N-acetil-D-glicosamina (GlcNAc) unidas por uma ligação glicosídica β -1,3, como apresentado na figura 3 [8].

Figura 3: (a) Estrutura do Ácido D- glicurônico, (b) Estrutura da N-acetil-D-glicosamina e repetidas unidades dissacarídicas formando o polímero linear (c) Ácido Hialurônico.



Fonte: Adaptado de SELYANIN, 2015

Esta molécula que conquistou o mercado estético atua preenchendo sulcos e áreas do rosto que necessitam de reposição de volume, hidratando, devolvendo elasticidade e o aspecto saudável à pele, devido a sua alta higroscopicidade [9]. A mesma está cada dia mais presente em nosso cotidiano, compondo formulações de shampoos, hidratantes (capilares, corporais, faciais e labiais), sérums, géis, cremes anti-idade, entre outros tantos produtos das linhas de higiene, limpeza, maquiagens e outros produtos cosméticos [2].

É importante salientar que o AH, além da dermatologia, também executa papéis fundamentais na oftalmologia e traumatologia, sendo empregado devido sua

viscoelasticidade; em cirurgias oftalmológicas, como no caso da extração de catarata ^[10], e tratamentos viscosuplementação, que visa restaurar as propriedades reológicas e até mesmo retardar cirurgias protéticas ^[11].

O AH geralmente é obtido pela extração de cristas de galos ou pela fermentação das bactérias do tipo *Streptococcus zooepidemicus*. A obtenção pelo processo fermentativo apresenta maior rendimento, melhor controle, otimização do processo, resultando em um produto mais homogêneo e de favorável purificação ^[12].

O presente trabalho apresenta um levantamento bibliográfico a fim de contextualizar a molécula de ácido hialurônico, suas propriedades e aplicações.

2. OBJETIVOS

Este trabalho possui como finalidade contextualizar a molécula de ácido hialurônico, suas propriedades e aplicações.

3. METODOLOGIA

A revisão bibliográfica consiste em um trabalho científico, embasado por análises e seleções de materiais relevantes sobre determinado tema, encontrados na literatura ^[13]. O conjunto de materiais que fundamentam a revisão bibliográfica são os livros, artigos e revistas científicas, teses, dissertações, entre outros ^[14].

Dentre as classes de revisões bibliográficas, destacam-se a revisão sistemática e revisão integrativa, sendo que uma busca responder algo específico sobre determinado tema e a outra é caracterizada por ser mais ampla, realizando um estudo generalizado com a finalidade de contextualizar o tema, respectivamente, sendo a última o caso do presente trabalho ^[15].

A revisão bibliográfica é imprescindível para a elaboração de qualquer trabalho, visto que a mesma proporciona um aprofundamento sobre o assunto de interesse, embasamento, permite descobertas de avanços e lacunas, orientando assim o desenvolvimento das sucessivas pesquisas ^[16].

Este Trabalho de Conclusão de Curso apresenta uma breve revisão da literatura sobre a molécula de ácido hialurônico, suas propriedades, aplicações e sua atual relevância. O mesmo foi desenvolvido e contextualizado a partir de levantamento de dados realizados por ferramentas de busca disponíveis na Web, como *Google Acadêmico*, *Mendeley*, *PubMed*, *Periódicos Capes*, *SciELO* e *ScienceDirect*, incluindo estudos em inglês e português, excluindo assim trabalhos em outros idiomas.

Para o levantamento bibliográfico também foram consultadas revistas pertinentes ao tema e páginas eletrônicas, tendo como descritores para busca “ácido hialurônico”, “glicosaminoglicanos”, “higroscopicidade”, “*Streptococcus zooepidemicus*”, “mecanismo de ações do AH” e suas respectivas conversões para o inglês.

Os mesmos foram realizados no período de maio a novembro de 2022, incluindo publicações a partir dos anos 2000. Como metodologia, criou-se a seguinte rota: planejamento, determinação dos objetivos, análise e seleção de materiais, organização e contextualização das ideias a serem trabalhadas e desenvolvimento no trabalho.

4. ESTUDO DE LITERATURA

4.1. Histórico do AH

Em 1934, os cientistas Karl Meyer e John Palmer, no Laboratório de Bioquímica, na Universidade da Columbia, em Nova York, isolaram a primeira molécula de AH, do humor vítreo bovino, identificando a molécula como um polissacarídeo contendo ácido urônico, que são ácidos carboxílicos derivados por oxidação de uma aldose ^[17].

O nome da substância descoberta possui como referência o local de seu isolamento, vítreo que em grego é “*hyalos*” e a estrutura presente na mesma que é o ácido urônico, também conhecido por açúcares urônicos originando assim ácido hialurônico ^[18].

Nos anos subsequentes à descoberta, isolaram AH de vários tecidos de vertebrados, como fluido articular, cordão umbilical e até da crista de galo. Constataram que se tratava de um polissacarídeo da família dos glicosaminoglicanos (GAGs), porém o mesmo não era sintetizado no complexo de Golgi e nem era sulfatado ^[18].

Em 1937, o bioquímico Forrest E. Kendall isolou o AH das cápsulas de bactérias do gênero *Streptococcus* do grupo A e C ^[19], sendo este ocorrido considerado de grande

relevância e progresso científico, visto que a bactéria *Streptococcus zooepidemicus* é a principal fonte de AH da atualidade.

Já em 1943, após estudos realizados por Balazs e Piller, sobre as articulações do joelho de um cachorro, notou-se a importância do AH no revestimento interno e lubrificação das articulações [20]. Pouco depois, em 1949, os cientistas Meyer e Ragan, publicaram sobre as observações do hialuronano no líquido sinovial, sendo ele seu principal componente, relacionando, pela primeira vez, a sua viscosidade [20], se tornando a base para diversos estudos que contribuíram para a área da traumatologia.

Enquanto muitos cientistas focaram nas assimilações do AH e o organismo, os químicos buscavam a elucidação da sua estrutura, visto que naquela época não havia técnicas avançadas, como atualmente, que se pode contar com o RMN, Infravermelho e Espectrometria de Massas [18].

Os primeiros resultados sobre uma possível estrutura saíram ao analisar a cinética da hidrólise enzimática do AH, no processo fermentativo, realizado por Abert Dorfman, por volta de 1948 [21].

Dentre todos os experimentos e estudos da época que contribuíram para elucidação da estrutura e conhecimento da molécula, vale destacar a descoberta de 1951, alcançada por A.G. Ogston e J.E. Stanier, onde foi possível consolidar propriedades que fazem esta substância ser essencial nas suas aplicações, que são a viscosuplementação e sua higroscopicidade. Observaram que “a viscosidade e o gradiente de velocidade são diretamente proporcionais a massa do polissacarídeo, o mesmo em uma solução aquosa, realizava entrelaçamentos com as moléculas vizinhas aumentando o gradiente de velocidade”, visto que estas moléculas vizinhas são moléculas de água [22].

Foi então em um artigo publicado em 1954, que Meyer e Linker apresentaram a estrutura de AH, constituída por unidades dissacarídicas de ácido D-glicurônico (GlcUA) e N-acetil-D-glicosamina (GlcNAc) unidas por uma ligação glicosídica β -1,3, juntamente com sua decomposição realizada pela enzima hialuronidase [23].

As descobertas das propriedades e aplicações andaram juntas na linha do tempo do AH, visto que os primeiros experimentos trouxeram as bases para as principais áreas de aplicações atuais e o conjunto de pesquisas realizadas por cientistas de diversas áreas

consolidaram a molécula de AH. Na área de aplicações, destaca-se Endre A. Balazs, que contribuiu para traumatologia, oftalmologia e dermatologia.

Como citado anteriormente, em 1943, juntamente com Piller, ele relata a influência do AH no revestimento interno e lubrificação das articulações ^[20], sendo mais tarde, na década de 70, que as primeiras aplicações do AH foram realizadas em articulações de cavalos de corrida que sofriam de artrite, obtendo bons resultados ^[18].

Já na década de 50, o mesmo iniciou os estudos na área da oftalmologia, salientando o possível potencial de AH em tratamentos de deslocamento de retina, o que foi consolidado por anos de estudos, hoje sendo utilizado em cirurgias oftalmológicas, como na extração de catarata ^[24].

Na dermatologia, as descobertas de suas aplicabilidades e benefícios iniciam-se em 1989, notando-se assim sua propriedade como preenchimento dérmico, além da sua biocompatibilidade com o organismo e ausência de imunogenicidade, originando assim sua funcionalidade na indústria da estética ^[25].

4.2. Propriedades do Ácido Hialurônico

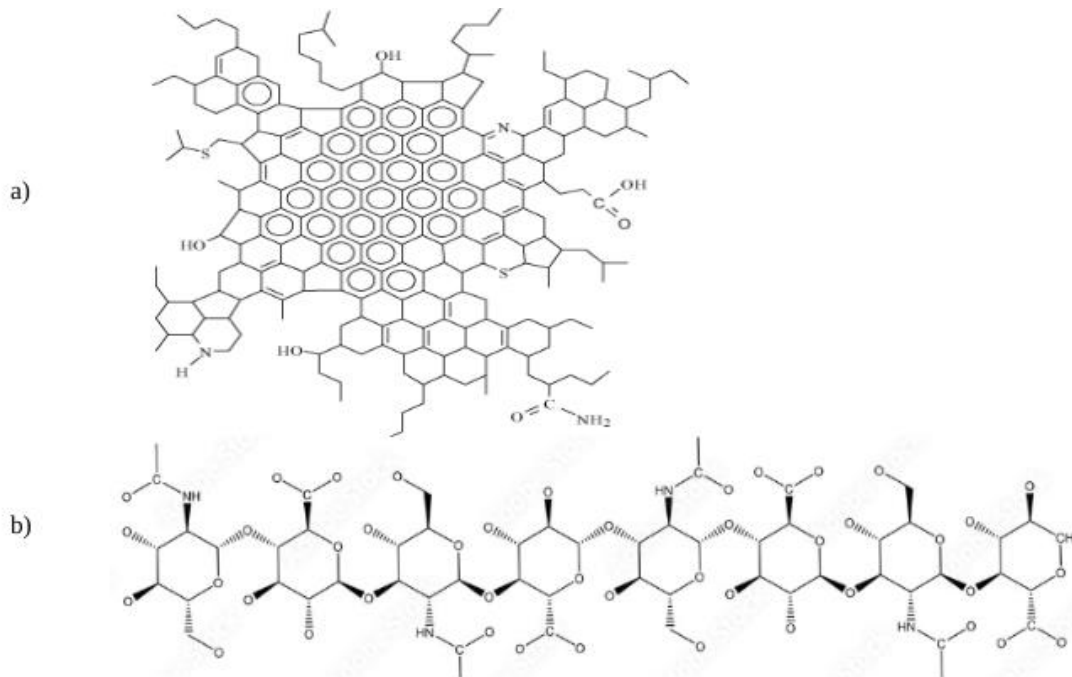
O ácido hialurônico é um polímero linear, classificado como um polissacarídeo, da família dos glicosaminoglicanos, de fórmula molecular $(C_{14}H_{21}NO_{11})_n$, sintetizado tanto no organismo dos vertebrados, quanto na cápsula de algumas bactérias ^[8]. Este é encontrado em quase todos os órgãos e em todos os tecidos conjuntivos, como na pele, líquido sinovial, cordão umbilical, humor vítreo e cartilagem, desempenhando significativa função estrutural para os tecidos ^[7].

Os tecidos conjuntivos são constituídos basicamente de Substância Fundamental Amorfa (SFA), células e fibras. Sendo responsável por preencher e estruturar os tecidos, transportar fluidos teciduais, armazenar substâncias e proteção mecânica. O mesmo se divide em tecido conjuntivo frouxo e denso. O que os diferencia são suas composições, sendo o primeiro formado pelos elementos dos conjuntivos na mesma proporção e o segundo abundante em fibras e pouco SFA ^[26].

A SFA é caracterizada pela sua alta viscosidade e higroscopicidade, isto é, apresenta maior resistência de um fluido ao escoamento e possui grande afinidade pelas moléculas de água, respectivamente. É composta por macromoléculas aniônicas, que são substâncias

orgânicas de elevado peso molecular, carregadas negativamente, sendo estas os glicosaminoglicanos, proteoglicanos e glicoproteínas de adesão [26]. É importante ressaltar que todo polímero é uma macromolécula, mas a recíproca não é verdadeira, visto que, polímero são macromoléculas constituídas por unidades de repetição, designados meros, já não necessariamente macromoléculas são constituídas de meros (Figura 4) [27].

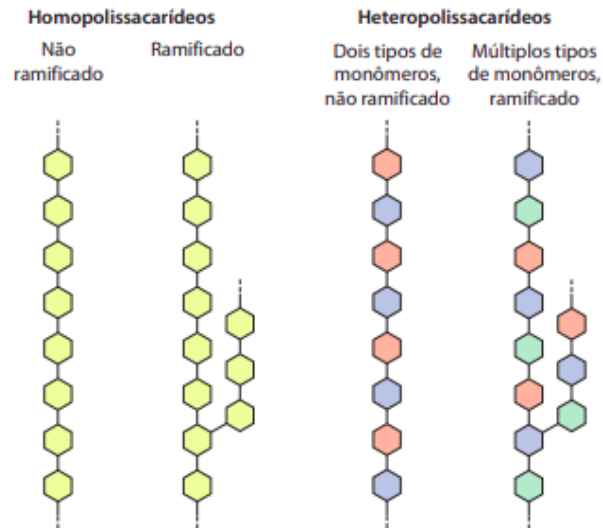
Figura 4: Estruturas de macromoléculas a) asfalteno e b) AH



Fonte: Adaptado de LUCAS, 2001

Os glicosaminoglicanos (GAGs) são heteropolissacarídeos lineares (Figura 5), que atuam preenchendo o espaço extracelular e são exclusivos dos organismos de animais e bactérias, logo não sendo encontrados em plantas. São compostos por meros de dissacarídeos, estes que são constituídos pela ligação glicosídica entre dois monossacarídeos, isto é, quando um grupo hidroxila de uma molécula de açúcar reage com o carbono anomérico de outra [28].

Figura 5: Diferença entre homopolissacarídeos e heteropolissacarídeos.

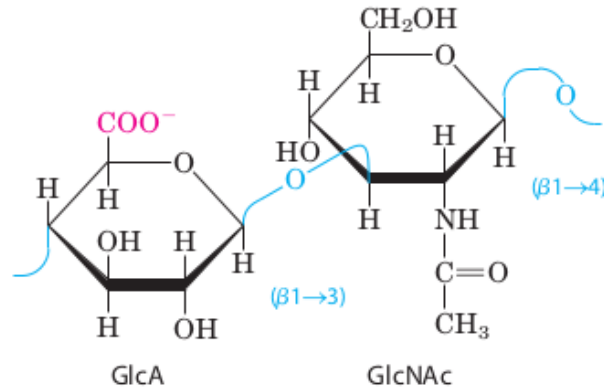


Fonte: LEHNINGER, 2014

Os dissacarídeos responsáveis pela formação dos glicosaminoglicanos, precisam seguir uma regra, que consiste em: pelo menos um monossacarídeo precisa ser a N-acetil-D-glicosamina (GlcNAc) ou N-Acetilgalactosamina (GalNAc) e o outro um ácido urônico, usualmente sendo o Ácido D-Glicurônico (GlcA) ou Ácido L-Idurônico (IdoA) ^[28].

O AH, como citado anteriormente, pertence à família de glicosaminoglicanos, é constituído por unidades dissacarídicas de ácido D-glicurônico (GlcA) e N-acetil-D-glicosamina (GlcNAc) unidas por uma ligação glicosídica β -1,3 (Figura 6), deste modo obedecendo a regra, contendo cerca de 50.000 unidades dissacarídicas, possuindo um peso molecular próximo a 10 MDa ^[28].

Figura 6: Ligação glicosídica entre ácido D-glicurônico (GlcA) e N-acetil-D-glicosamina (GlcNAc), formando ácido hialurônico.



Fonte: Adaptado de LEHNINGER, 2014

O AH se diferencia dos outros GAGs (Tabela 1), por não ser sulfatado, isto permite que sua molécula seja rígida e linear ^[29], apresentando cadeia polimérica bem maior que os outros e não é sintetizado no complexo de Golgi que é uma organela de células eucarióticas; já os sulfatados se unem covalentemente às proteínas do núcleo formando os proteoglicanos. No organismo dos vertebrados, os fibroblastos, que são células que constituem a SFA são os responsáveis pela síntese das fibras de colágeno, elastina e do ácido hialurônico ^[30].

Tabela 1: Características dos Glicosaminoglicanos

Glicosaminoglicanos	MM aproximada (Da) 1 Da = 1,6605 x 10 ⁻²⁴ g	Unidades Dissacarídicas
Sulfato de Keratan	10.000	Galactose 6-sulfato + N-acetil-D-Glucosamina 6-sulfato
Sulfato de Heparano	15.000	Ácido L-Idurônico 2-sulfato + N-acetil-D-Glicosamina
Sulfato de Condroitina 4	25.000	Ácido D-Glicurônico + N-acetilgalactosamina 4-sulfato
Sulfato de Condroitina 6	25.000	Ácido D-Glicurônico + N-acetilgalactosamina 6-

		sulfato
Sulfato de Dermatano	35.000	Ácido L-Idurônico + N-acetilgalactosamina 4-sulfato
Ácido Hialurônico	1.000.000	Ácido D-Glicurônico + N-Acetil-D-Glicosamina

Fonte: Adaptado de SELYANIN, 2015

Em condições fisiológicas e para uso na maioria das formulações, ele se encontra como hialuronato de sódio, de fórmula molecular $C_{28}H_{44}N_2NaO_{23}$, peso molecular de 799,64 $g.mol^{-1}$, pH entre 5-7,7, densidade $1,78 g.cm^{-3}$, ponto de ebulição igual a $791,6 ^\circ C$. Por estar carregado negativamente, uma vez que o grupo carbonila (COO^-) interage com o íon de sódio (Na^+)^[31], atrai as moléculas de água, sendo considerada uma molécula higroscópica, podendo se ligar até 1000 vezes o seu peso em moléculas de água^[28].

Sendo assim, quanto mais ligações entre moléculas de água e de AH mais ligação de hidrogênio são formadas, ligações cruzadas são realizadas gerando assim a reticulação da molécula, expandindo de acordo com sua absorção de água. A partir deste fenômeno se dá a viscoelasticidade, isto é, a capacidade de se comportar de forma elástica e viscosa^[32].

A viscoelasticidade é uma propriedade reológica, deste modo ao se aplicar uma força em um fluido viscoelástico, o mesmo irá se deformar a uma taxa constante independente da velocidade de aplicação, após retirar a força ele retorna ao seu estado original de forma gradativamente^[33].

4.3. Estudo do mecanismo

Para iniciar o estudo do mecanismo entre os carboidratos, é importante ressaltar algumas definições, logo temos:

- Carbono assimétrico é o carbono que apresenta na cadeia quatro ligantes diferentes, o mesmo dita a estereoisomeria e quantos estereoisômeros o carboidrato pode ter;
- Estereoisomeria é o estudo do comportamento das substâncias quando submetidas a um feixe de luz polarizada, deste modo, ao analisar o carbono assimétrico e o grupo OH (hidroxila) estiver à direita ele é dextrogiro (D) e se for à esquerda ele é levogiro (L);

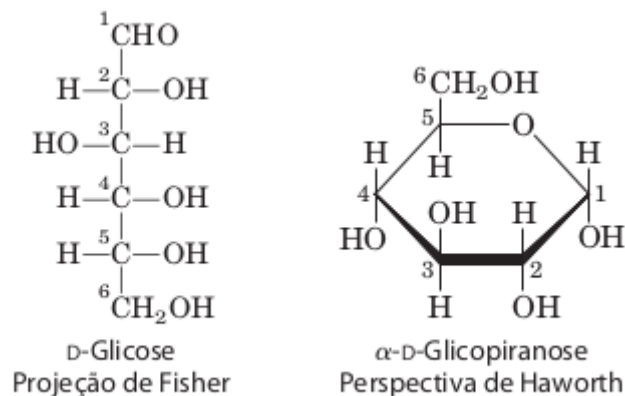
- Estereoisômeros são moléculas com as mesmas ligações químicas e mesma fórmula molecular, mas com diferentes arranjos no espaço [34].

4.3.1. Mecanismo da Ligação Glicosídica

O ácido hialurônico é constituído pela ligação glicosídica entre dois monossacarídeos, isto é, um grupo hidroxila de uma molécula de açúcar reage com o carbono anomérico de outra [28].

Para observarmos o mecanismo realizado na reação glicosídica, se deve passar o carboidrato em questão, da projeção de Fischer para perspectiva de Haworth, sendo a primeira projeção quando a molécula é representada por interseções entre traços verticais e horizontais, esta que foi desenvolvida para estudar os isômeros dos carboidratos, e a segunda quando a molécula é representada de forma cíclica, tridimensional (Figura 7) [28].

Figura 7: Glicose em projeção de Fisher e Perspectiva de Haworth



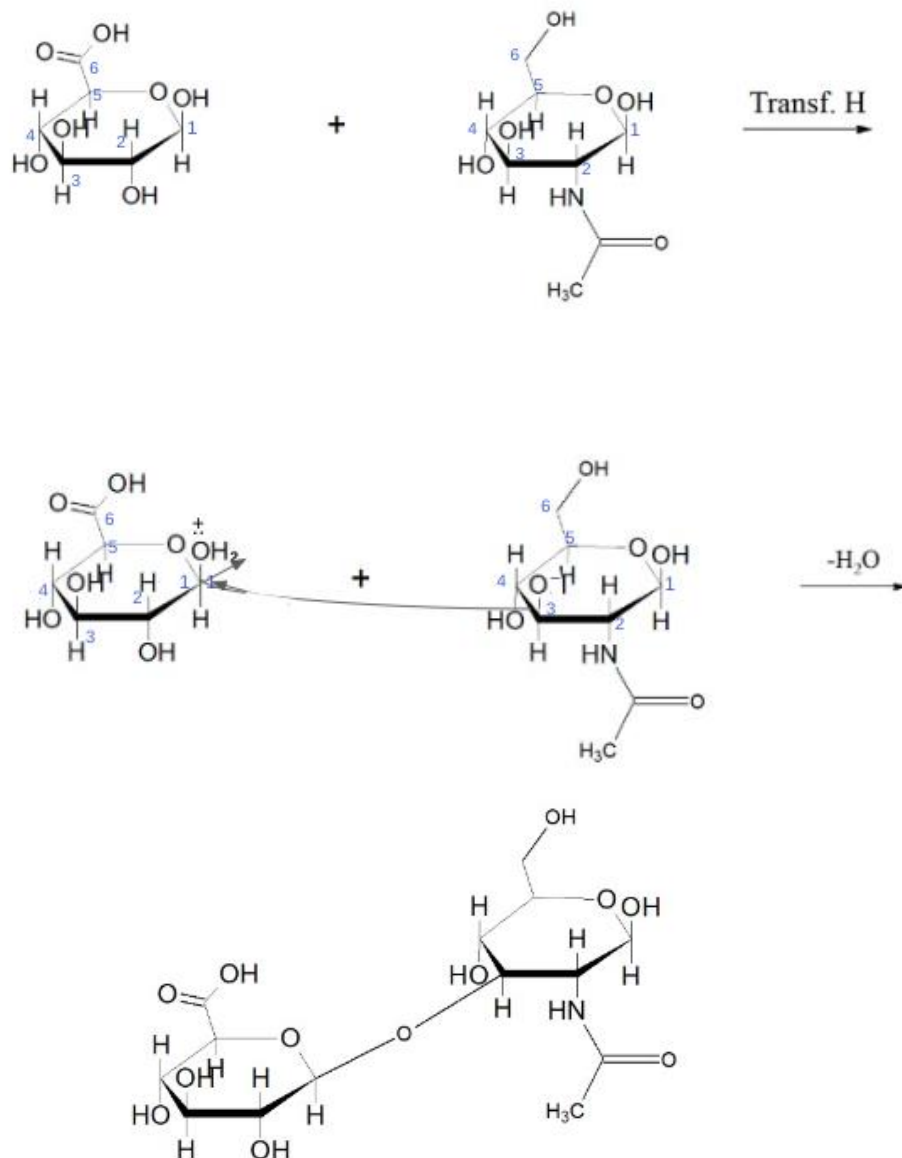
Fonte: Adaptado de LEHNINGER, 2014

Desta perspectiva é possível observar melhor o carbono anomérico (C1- aldose e C- cetose), ou seja, o carbono derivado da carbonila após a ciclização, e enumerar o restante, podendo assim definir entre quais carbonos acontecerá a ligação glicosídica e sua configuração [28].

A configuração se dá analisando a OH (hidroxila) que está ligada ao carbono anomérico, se ele estiver do lado oposto ao C6 (CH₂OH), abaixo do plano do anel, sua configuração é α , caso ele esteja do mesmo lado do C6 (CH₂OH), na parte superior do plano do anel, a configuração é β [28].

O produto de interesse é formado pela reação entre o ácido D-glicurônico (GlcA) e N-acetil-D-glicosamina (GlcNAc), analisando suas estruturas temos; que o hidrogênio da OH ligada ao C3 da GlcNAc doa um próton (H^+) para a OH do carbono anomérico (C1) do GlcA, desta forma a OH do C1 agora está com oxigênio carregado positivamente e o oxigênio do C3 está carregado negativamente, o mesmo ataca o carbono C1 e libera H_2O , formando assim o dissacarídeo ácido hialurônico, como pode ser observado no mecanismos apresentado na figura 8 [28]:

Figura 8: Mecanismo de formação do AH



Após a formação do glicosídeo, molécula resultante da ligação glicosídica, observa-se que o mesmo possui um carbono anomérico livre (C1 da GlcNAc), isto é, uma extremidade redutora, capaz de ser oxidada, sendo assim possível que uma nova ligação glicosídica seja realizada entre as moléculas disponíveis no meio, formando assim um biopolímero^[28].

4.4. Obtenção do AH

As primeiras fontes de obtenção de AH são de origem animal, principalmente do cordão umbilical e crista de galo, apresentando quantidades significativas do produto de interesse, entretanto, possuem altos graus de impurezas, como proteínas, peptídeos, lipídios, ácidos nucleicos, mucopolissacarídeos e precursores de baixo peso molecular, sendo necessário processos laboriosos de purificação.^[35]

Além da obtenção de origem animal apresentar dificuldade no controle da massa molar do polímero linear, existe também a questão da biossegurança de produtos derivados de animais, visto que existem restrições do seu uso, devido ao risco de infecções virais.^[36]

Atualmente a principal fonte de obtenção é pela fermentação de microrganismos, por apresentar maior rendimento, melhor controle e otimização do processo, resultando em um produto mais homogêneo e de favorável purificação.^[37]

As bactérias do gênero *Streptococcus* do grupo A e C, destacam-se por possuírem uma cápsula de AH ao redor da sua superfície, podendo ser observada pelo microscópio. A mesma possui a funcionalidade de camuflá-las do sistema imunológico do seu hospedeiro, logo classificada como patogênica, trazendo riscos biológicos.^[38]

Deste modo, ainda que o processo de purificação possua alto valor em relação a rota de obtenção de origem animal, por necessitar de maior controle, visto que envolve fatores primordiais para seu desenvolvimento, como o favorecimento das condições de sobrevivência do microrganismo, conhecer qual a fase que o produto de interesse é produzido, a temperatura ótima, pH ótimo, entre outros, a via fermentativa é mais segura e favorável industrialmente.^[38]

O processo fermentativo de microrganismo, ou seja, que depende do crescimento da cultura microbiana, pode ser definido como um processo de conversão de uma substância em um produto final, devido a uma reação catalisada por microrganismo (figura 9). O mesmo pode ser desenvolvido tanto pelo processo batelada, quanto pelo processo contínuo.^[39]

Figura 9: Fluxograma do processo fermentativo.

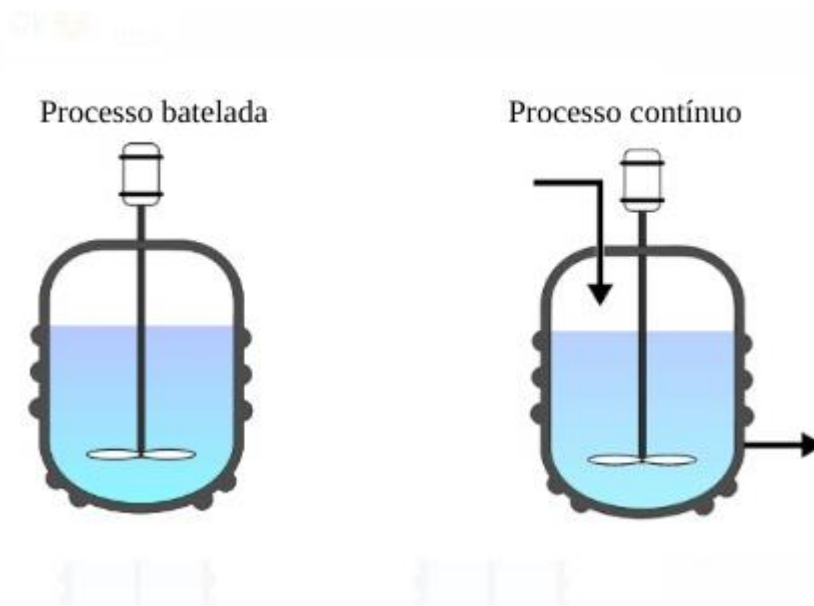


Fonte: A autora

No processo batelada, o sistema é exercido de forma descontínua, em regime transiente, que segundo a mecânica dos fluidos, diz sobre a variação das condições em alguns pontos do fluido com o tempo ^[33]. O processo se dá pela carga (alimentação), reação e descarga (produto final), em apenas um ciclo, logo, quando o produto final for retirado, o biorreator deve ser alimentado novamente para que se inicie outra batelada.^[40]

Já no processo contínuo, ocorre em regime permanente, isto é, quando as propriedades do fluido são invariáveis em cada ponto com o tempo ^[33]. O sistema opera de forma ininterrupta, onde o biorreator é alimentado continuamente e o produto descarregado simultaneamente ^[40]. Estudos apontam que no caso do processo fermentativo para produção do AH, o sistema batelada é o mais eficaz que o contínuo ^[36], a figura 10 apresenta a diferença entre os mesmos ^[41].

Figura 10: Diferença de processo contínuo e processo batelada.



Fonte: Adaptado de

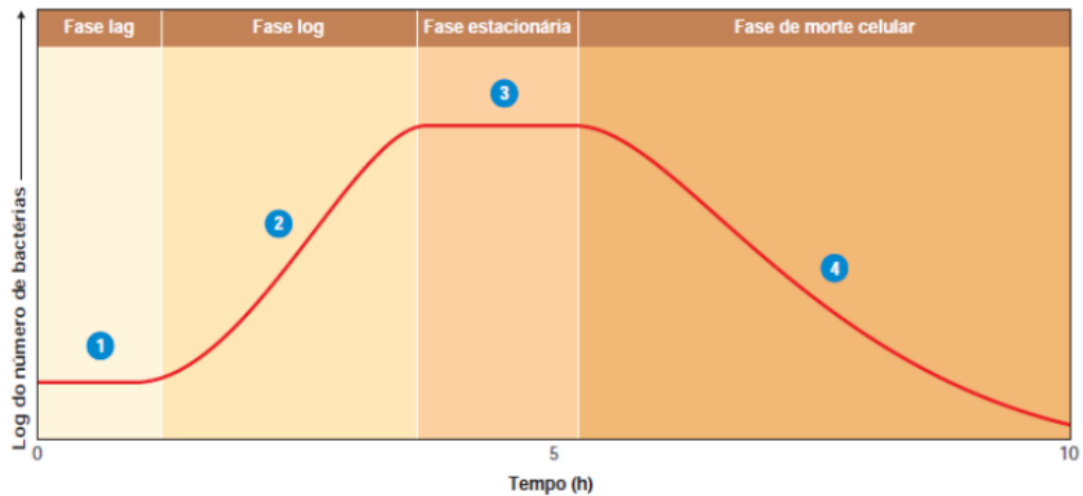
https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4280382/mod_resource/content/1/Conceitos%20b%C3%A1sicos%20e%20Engenharia.pdf

Uma cultura batelada passa por etapas que exigem monitoramentos minuciosos, visto que, as condições não permanecem ideais por muito tempo e sendo de suma importância conhecer em qual delas se encontra o produto de interesse ^[42].

Existem fatores físicos e químicos que interferem no crescimento microbiano, logo ditam as etapas e como o processo se desenvolverá. Sendo o pH, temperatura e pressão osmótica considerados como fatores físicos, e os nutrientes como fatores químicos sendo estes fontes de carbono, fontes de vitaminas, nitrogênio, entres outros ^[41].

O processo fermentativo depende do crescimento microbiano, que passa por quatro fases, sendo estas; a fase de latência, fase de crescimento exponencial, fase estacionária e fase de declínio, como apresentado no gráfico 1, abaixo ^[43]:

Figura 11: Gráfico da Curva de crescimento microbiano (Log do número de bactérias x Tempo)



Fonte: Adaptado de TORTORA, 2000

No gráfico acima temos:

1. Fase Latência (lag)

Caracterizada por ser a fase inicial do processo, em que os microrganismos estão se adaptando as condições submetidas, não há aumento de número, apenas de tamanho dos indivíduos ^[43].

2. Fase de Crescimento Exponencial (log):

A fase log se trata dos microrganismos já adaptados as condições, absorvendo os nutrientes, sintetizando, crescendo e se duplicando, apresentando assim o aumento do crescimento do número de indivíduos em função do tempo e alto potencial metabólico, devido a predominância de células jovens ^[43].

Esta fase é considerada essencial, já que fornece dados fundamentais para estudos, como fisiologia, cinética, quantidade de produto e taxa de crescimento exponencial.

3. Fase Estacionária:

Nesta fase, os nutrientes já estão escassos, tendo assim um aumento dos produtos tóxicos, estabilização do número líquido de indivíduos, isto é, a quantidade de células que crescem é equivalente a quantidade de células que morrem, e a síntese de metabolismo secundários, como antibióticos e enzimas ^[43].

4. Fase de Declínio (morte celular):

Na última fase a quantidade de células que morrem é maior que a quantidade de células que crescem, deste modo, apenas os microrganismos mais resistentes sobrevivem, fazendo assim com que a própria cultura se esterilize. É importante salientar que a duração da mesma é variável, visto que depende do tipo de microrganismo ^[43].

4.4.1. Metodologias para obtenção do AH:

I) Método de extração de origem animal:

I.I) Materiais e Reagentes:

- Crista de galo ou cordão umbilical;
- Água destilada;
- Propanona;
- Clorofórmio;
- Etanol 95%;
- Triturador;
- Centrífuga.

I.II) Procedimento Experimental:

Inicialmente, higieniza-se a matéria-prima, fazendo de 5 a 10 lavagens com uma solução, podendo ser esta uma mistura de água e propanona, etanol e clorofórmio ou etanol 95%, deste modo, assegurando que todo o sangue foi retirado, visto que, a presença de íons de ferro e cobre promovem mecanismos de radicais livres, resultando em destruição enzimática e oxidativa do AH. Após este processo, pode-se armazenar por até 24 meses conservada em etanol 95%, com temperatura entre 4 - 22°C.

Em seguida, as cristas ou cordões devidamente higienizados devem passar pelo processo de homogeneização, que pode ser realizado com o auxílio de um triturador ou moinho de bolas, permitindo assim uma maior superfície de contato e melhor extração do produto de interesse.

A próxima etapa consiste na adição de água e centrifugação da mistura. Neste caso, o produto de interesse está no sobrenadante, onde se deve adicionar etanol 95%, precipitando assim o AH ^[44].

Esta metodologia se baseia na primeira extração realizada em 1979, por Balazs, que foi usada industrialmente por muito tempo, que consistia em congelar as matérias de origem animal, extrair com água e precipitar o AH com solventes orgânicos, como apresentado na figura 11 [45].

Figura 12: Fluxograma da extração de AH de origem animal.



Fonte: Adaptado de BALAZS, 1979

II) Rota fermentativa do *Streptococcus zooepidemicus*

Este modelo é baseado em um trabalho publicado em setembro de 2018 no *Blucher Proceedings*, designado “PRODUÇÃO DE ÁCIDO HIALURÔNICO: MODELAGEM DO CULTIVO DE STREPTOCOCCUS ZOOEPIDEMICUS”, realizado pela parceria entre a Universidade Federal de São Carlos e Universidade Estadual de Campinas, e suas respectivas Faculdades de Engenharia Química [46].

Figura 13: Trabalho “Produção de ácido hialurônico: Modelagem do cultivo de *Streptococcus zooepidemicus*”



PRODUÇÃO DE ÁCIDO HIALURÔNICO: MODELAGEM DO CULTIVO DE STREPTOCOCCUS ZOOEPIDEMICUS

HARTH ML¹, SARGO CR¹, SANTANA MHA², ZANGIROLAMI TC^{1,3}, GIORDANO RC^{1,3} e HORTA ACL^{1,3}

¹ Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

² Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Departamento de Engenharia de Materiais e Bioprocessos

³ Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Engenharia Química
E-mail para contato: matharth@gmail.com

RESUMO – Ácido hialurônico (AH) é um biopolímero de grande interesse comercial, produzido industrialmente por cultivo submerso de bactérias. Foi desenvolvido neste trabalho um modelo para a produção de ácido hialurônico usando *Streptococcus zooepidemicus* em biorreator tipo tanque agitado usando glicose e peptona de soja como meio de cultivo. Este modelo considerou a produção de acetato e o consumo de lactato, compostos importantes do metabolismo celular. O modelo conseguiu descrever bem os dados experimentais e pode ser utilizado para simulações e otimização *in silico* da produção de AH.

Fonte: HARTH, 2018

II.I) Materiais e Reagentes:

- *Streptococcus zooepidemicus*;
- Glicose;
- Peptona de soja;
- Biorreator de tanque agitado.

II.II) Procedimento Experimental

Primeiramente é necessário preparar o meio de cultura, onde se cria um ambiente propício para cultivo dos microrganismos, visto que estão fora do seu habitat, fornecendo os nutrientes adequados. Geralmente os microrganismos são fornecidos por centros biológicos responsáveis pela conservação dos mesmos, como o caso deste trabalho, onde *Streptococcus zooepidemicus* foi cedido pelo Laboratório de Desenvolvimento de Processos Biotecnológicos – FEQ/UNICAMP.

Logo, adicionou-se a um biorreator tipo tanque agitado em batelada o meio de cultura, constituído por *Streptococcus zooepidemicus*, glicose em uma concentração de 70 g.L⁻¹ e peptona de soja 113,32 g.L⁻¹, tendo como pH ótimo 7, temperatura ótima de 37°C e 97% de oxigênio saturado.

Para monitorar as condições físicas necessárias para eficácia do processo, utilizou-se *software* SUPERSYS HCDC, já para acompanhamento do desenvolvimento da reação, a fim de analisar a concentração celular, retirou-se amostras e as analisou por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, em uma coluna Aminex HPX-87H com H₂SO₄ 4 mM a 0,6 mL/min e 65 °C [46].

II.III) Resultados e discussões:

O uso do tanque agitado e saturação de oxigênio são imprescindíveis, pois o AH é caracterizado pela sua alta viscosidade, logo possui uma baixa oxigenação no meio que dificulta a agitação [46].

Observou-se que a formação de AH dependia diretamente do consumo de glicose, seguindo os fatores físicos e químicos propostos para um bom desenvolvimento do processo [46].

Existe um mecanismo muito utilizado para aumento de produção de qualquer biopolímero que dependa do crescimento microbiano. A metodologia consiste em ameaçar o

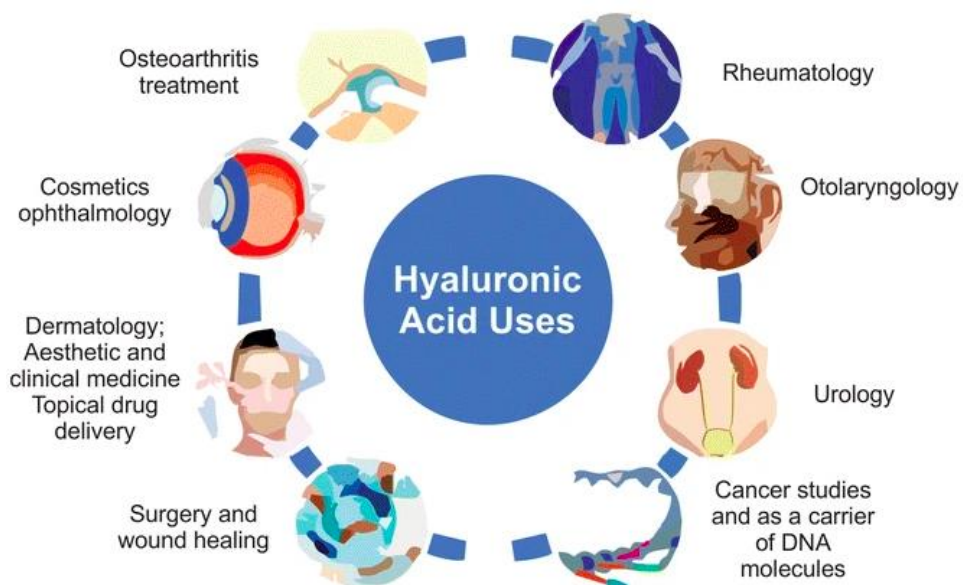
microrganismo, colocando em situação de estresse, como alterar meio para básico ou ácido, visto que para que o mesmo se comporte bem necessita seguir as condições ótimas estudadas [61].

Segundo um estudo realizado pelos cientistas Armstrong e Johns, quando o *Streptococcus zooepidemicus* é submetido ao meio alcalino intermitente, numa faixa de pH 7-8,5 e baixa aeração, sua produção de AH aumenta 30%, tendo que o seu pH ótimo é de 7 e necessita de 97% de saturação. Ao se sentir ameaçado, o *Streptococcus zooepidemicus* sintetiza uma capsula de AH para se camuflar [61].

4.5. APLICAÇÕES

Intuitivamente se assimila o AH a indústria estética, entretanto, este possui amplas aplicações devido suas características fundamentais, sendo estas a biocompatibilidade, higroscopicidade, viscoelasticidade, não imunogenicidade, sua capacidade de se degradar sem liberar toxicidades e sua ampla faixa de MM, visto que o tamanho do fragmento da molécula direciona o tipo de aplicação. Logo, além da dermatologia, se destaca também na oftalmologia e traumatologia. Estas e outras aplicações podem ser observadas na figura 12 [41].

Figura 14: Aplicações biomédicas do AH



Fonte: Adaptado de OLIVEIRA, 2016

4.5.1. Dermatologia:

A indústria da beleza juntamente com a busca incessante pelo rejuvenescimento, faz com que aumente a demanda por técnicas mais seguras, menos invasivas e eficazes, dentre estas, se destaca o uso do ácido hialurônico injetável, atuando no preenchimento dos sulcos e áreas do rosto que necessitam de reposição de volume, hidratando, devolvendo elasticidade e o aspecto saudável à pele, devido a sua alta higroscopicidade [9].

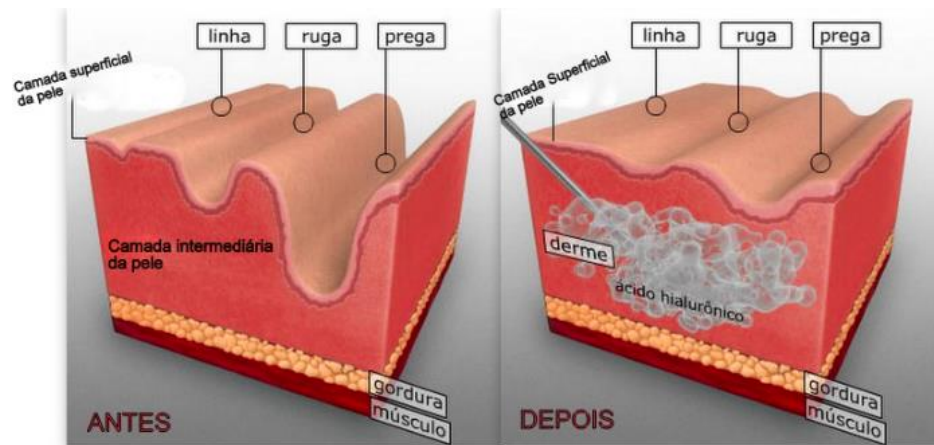
Atualmente o AH não é encontrado somente como injetável, mas também de uso tópico ou oral, está presente em nosso cotidiano, compondo diversas formulações, como de shampoos, hidratantes (capilares, corporais, faciais e labiais), sérums, géis, cremes anti-idade, entre outros tantos produtos das linhas de higiene, limpeza, maquiagens e outros produtos cosméticos [2].

Sabendo-se que a pele produz cerca de 56% do ácido hialurônico presente no organismo humano, produção esta que sofre decaimento após os 30 anos, pois o corpo começa a ter dificuldade para repor o material extracelular desgastado, tendo assim o aparecimento de rugas, marcas de expressões mais fortes e perda do brilho, os preenchedores dérmicos a base de AH se sobressaem dos demais por sua segurança e biocompatibilidade, já que ao ser inserido na derme ele é reconhecido pelo organismo, se tratando de um ácido reabsorvível de forma natural, logo raramente causando alergia, edemas ou reações adversas [47].

Sua alta procura também se deve por ser considerada uma técnica minimamente invasiva; seu resultado imediato e natural; durabilidade média de 4 a 6 meses, podendo chegar até a 12 meses dependendo da finalidade; sua versatilidade de aplicações, pois a maioria das técnicas são direcionadas para a regiões dos olhos, já o AH pode ser aplicado também nos lábios, queixo, orelha e mãos, promovendo assim hidratação e rejuvenescimento, além do mesmo após ser absorvido estimular a produção de colágeno do próprio organismo [47].

A quantidade de AH em gel injetável depende do resultado buscado pelo paciente e da avaliação profissional, variando de 1 a 3 mL de AH por região, sendo aplicado com auxílio de seringas, agulhas finas e cremes anestésicos. Ao ser inserido na derme, as moléculas de AH se ligam as moléculas de água, promovendo assim volume desejado e a hidratação, como apresentado na figura 13 [48].

Figura 15: Antes e depois da aplicação do AH em gel.



Fonte: Adaptado de <https://clinicawulkan.com.br/>

É importante ressaltar que os procedimentos estéticos com AH e quaisquer outro produto injetável, deve ser realizada apenas por profissionais autorizados e capacitados, em clínicas reconhecidas pela Vigilância Sanitária, sendo permitido até o presente momento médicos especialistas em estética, dermatologistas, biomédicos e cirurgião plástico ^[47].

O AH tópico, ou seja, aplicado na superfície da pele, cabelo ou couro cabeludo, vem ganhando o mercado mundial, principalmente durante a pandemia da COVID-19, quando as rotinas de skincare e cronograma capilares se popularizaram, propagadas pelas redes sociais, passando a fazer parte da rotina de pessoas de diversas classes sociais, pois a molécula tão desejada é encontrada em cosméticos com uma ampla faixa de preços, deste modo contribuindo para a melhoria da autoestima, bem-estar e saúde mental, visto que essas sensações são proporcionadas pela liberação do hormônio endorfina ^[49].

No uso tópico do AH, os efeitos se concentram majoritariamente sobre a superfície cutânea, hidratando e prevenindo seu ressecamento, tendo que sua molécula possui uma ampla faixa de MM, os fragmentos maiores ficam retidos na superfície, constituindo uma película temporária na pele ao capturar as águas do meio externo e os fragmentos menores conseguem penetrar e promover leve hidratação com as moléculas de água do meio interno,

logo se trata de um método não invasivo, mais acessível e que necessita de aplicação diária [50].

Já o uso oral é pouco conhecido, os estudos sobre o mesmo relatam menor eficácia quando comparado aos métodos citados anteriormente, entretanto os suplementos derivados de AH beneficiam não somente a derme, mas também as articulações, cabelos e tendões quando consumidos diariamente a longo prazo. O mecanismo de ação do AH oral também segue a lei do tamanho dos fragmentos de sua molécula, logo quanto menores forem os fragmentos constituintes do suplemento, melhor será sua absorção no intestino [51].

A dose diária recomendada é de 120 mg, os resultados começam a aparecer a partir de 3 meses de uso contínuo, são mais eficazes quando alinhados com alimentação equilibrada. Os suplementos podem ser encontrados em pó ou em cápsulas, geralmente compostos por AH em maior proporção, colágeno hidrolisado e vitamina C [51].

4.5.2. Oftalmologia

As aplicações desta biomolécula, vem sendo cada vez mais empregada na oftalmologia e nas suas diversas subespecialidades, devido sua viscoelasticidade e biocompatibilidade, tendo que a mesma é um constituinte fundamental dos tecidos oculares, como a córnea, esclera e humor vítreo, como apresentado na figura 14 [52].

Figura 16: Anatomia do olho humano



Fonte: Adaptado de <https://www.opticalucas.pt/index.html>

Dentre as várias aplicações, a que primeiro se destacou foi seu uso em cirurgias intraoculares, como na extração da catarata, esta que é uma lesão ocular no cristalino que o deixa opaco, retendo assim a passagem de luz até a retina, fazendo com que o paciente tenha uma visão embaçada e em casos mais graves, perda de visão. Pode ser desencadeada pelo envelhecimento, pancadas ou genética, tendo como única forma de tratamento a cirurgia [53].

Atualmente existem duas formas de cirurgias para a substituição do cristalino por uma lente artificial, podendo então optar por retirá-la por inteiro ou por facoemulsificação, esta última que é realizada com o auxílio de um aparelho que tritura e aspira o cristalino, exigindo menor corte, logo sendo menos invasiva [10].

Ambas as técnicas contam com a assistência e proteção que o AH pode ofertar devido sua viscoelasticidade, deste modo adiciona-se solução NaOH no local da cirurgia, que é extremamente delicado e limitado, a fim de criar um espaço intraocular, permitindo a realização das manobras necessárias durante o procedimento e protegendo o endotélio corneal, que se trata de uma película interna da córnea [54].

Além das cirurgias intraoculares, ele também é empregado em plásticas oculares, desordens na superfície ocular e estudos apontam até em um possível substituto do humor vítreo [10].

Sua aplicação na plástica ocular é semelhante a dermatologia, pois consiste injetar AH em gel em pálpebras inferiores com dificuldades de retração, atuando no preenchimento da lacuna da pálpebra, devolvendo seu movimento, permitindo menor exposição ocular, diminuindo assim possíveis inflamações na córnea e até uso de lubrificantes, técnica que apresentou durabilidade de 6 meses [55].

As desordens da superfície ocular, são causadas por algum distúrbio que levou a falta de lubrificação natural dos olhos, como caso de olho seco, deste modo o tratamento consiste em gotejar solução de NaOH 0,1% no olho. Segundo os estudos, obtiveram significativos resultados além da lubrificação imediata, como um maior controle dos sintomas rotineiros [56].

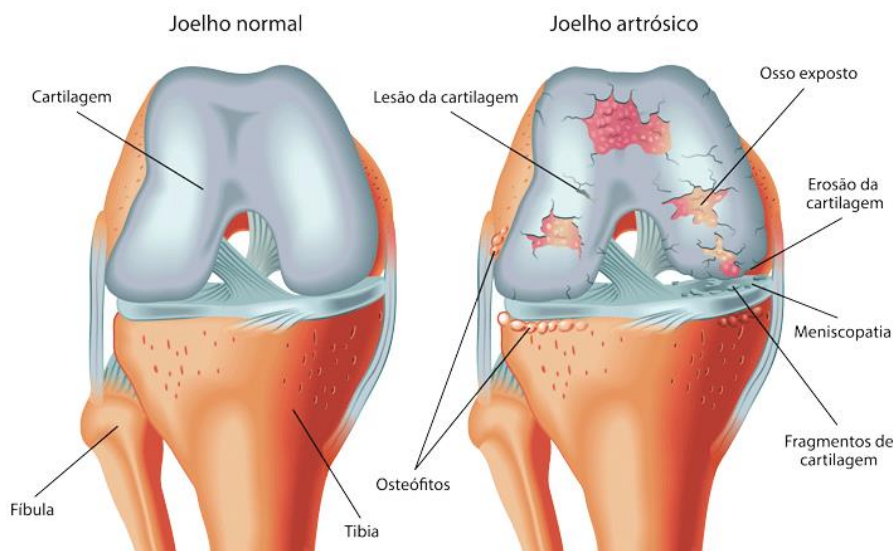
Já a substituição do humor vítreo pelo biopolímero, tem como embasamento o fato dele ser seu maior constituinte, sendo assim biocompatível, não imunogênico, incolor, tendo todas as características desejadas [57], além do primeiro isolamento da molécula de AH ter sido realizada de um humor vítreo bovino, em 1934 [17].

O experimento proposto por Kummer et al., consistia em formular uma solução com NaAH, ágar e água deionizada, esta que finalizada possui aparência similar ao humor vítreo, comportamento hidrodinâmico próspero, porém não foram realizadas teste in vitro e nem in vivo [57].

4.5.3. Traumatologia

A viscosuplementação é uma técnica considerada segura e eficaz a longo prazo, que corresponde a aplicação de AH para corrigir desgaste da cartilagem nas articulações [11], tendo como principal agente a osteoartrose (figura 15), doença de caráter inflamatório e degenerativo, caracterizada pela dor e comprometimento da mobilidade [58].

Figura 17: Diferença entre um joelho normal e um com osteoartrose.



Fonte: Adaptado de <https://icote.com.br/artigos/joelho/osteoartrose-do-jelho/>

Os primórdios desta técnica se encontram na década de 70, quando as primeiras aplicações do AH foram realizadas em articulações de cavalos de corrida que sofriam de artrite, doença caracterizada apenas pela inflamação, obtendo bons resultados [18].

Com o avanço dos estudos, foi possível confirmar que ao se injetar AH na diartrose, que é a articulação sinovial, ele não só restaura as propriedades do líquido sinovial, como atua regenerando, estimulando o metabolismo, prevenindo a degradação da SFA, inibindo futuras lesões e inflamações [59].

Neste caso, a alta viscosidade é de grande interesse, logo quanto maior for o fragmento da molécula de AH, mais ligações com a água serão realizadas, formando uma solução bem viscosa, garantindo o amortecimento dos choques entre os ossos, exatamente o papel da cartilagem nos organismos, restaurando as propriedades reológicas, até mesmo retardando cirurgias protéticas [60].

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do presente trabalho permitiu a contextualização da molécula de ácido hialurônico, podendo concluir que a mesma é uma molécula versátil e de alta relevância devido suas propriedades fundamentais, sendo estas a biocompatibilidade, higroscopicidade, viscoelasticidade, não imunogenicidade, sua capacidade de se degradar sem liberar toxicidades e sua ampla faixa de MM.

Sua descoberta foi um grande avanço na medicina, trazendo benefícios não somente para a dermatologia, mas também para oftalmologia e traumatologia. Os tratamentos realizados com o mesmo têm sido considerados eficazes, seguros, apresentando resultados satisfatórios.

O AH Injetável é um procedimento não cirúrgico, minimamente invasivo, estético terapêutico temporário, de considerável durabilidade, podendo ser de até 6 meses.

O uso tópico está cada vez mais presente a acessível a toda sociedade, contribuindo não somente para a saúde da pele, mas também para a saúde mental.

A obtenção via fermentação com *Streptococcus zooepidemicus* é interessante, entretanto os estudos continuam, visto que se trata de um microrganismo patogênico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] BAUMANN, L. **Dermatologia Cosmética: princípios e práticas**. Rio de Janeiro: Revinter, 2004.

[2] ABIHPC (2022). **Panorama do Setor Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos**, ABIHPEC - Associação Brasileira da Indústria da Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos, setembro de 2022, São Paulo. Disponível em: <<http://www.abihpec.org.br/>>.

- [3] HARRIS, M.I.N. de C. **Pele: estrutura, propriedades e envelhecimento**. São Paulo: Senac. 2003.
- [4] SEELEY, R., STEPHEN, T. e TATE, P., (2003). **Tegumentary System**. In: **Companies, M.-H. (ed.) Anatomy & Physiology**. pp. 150-172; 1104; 1105.
- [5] BORGES, F. S. **Dermato-funcional: modalidades terapêuticas nas disfunções estéticas**. 2. ed. São Paulo: Phorte, 2010
- [6] GARBUGIO, A.F.; FERRARI, G.F. **Os benefícios do ácido hialurônico no envelhecimento facial**. Revista UNINGÁ Review, Paraná, v.2, n.4, p.25-36, out. 2010.
- [7] KIM, J.H.; YOO, S.J.; OH, D.K.; KWEON, Y.G.; PARK, D.W.; LEE, C.H.; e GIL, G.H. **Selection of a Streptococcus equi mutant and optimization of culture conditions for the production of high molecular weight hyaluronic acid**”; Enzyme and Microbial Technology; v.19 (6), p. 440-445, 1996.
- [8] KAKEHI, K.; KINOSHITA, M.; YASUEDA, S. **Hyaluronic acid: separation and biological implications (Review)**. Journal of chromatography B; v. 797, p. 347-355, 2003.
- [9] AFORNALI, V.I.H. et al. **Análise prévia da eficácia da hidratação utilizando diferentes formulações contendo ácido hialurônico**. 2017.
- [10] FIGUERÊDO, E. S. de, MACEDO, A. C. de, FIGUERÊDO, P. F. R. de, & FIGUERÊDO, R. S. de. **Aplicações oftalmológicas do ácido hialurônico**. Arquivos Brasileiros de Oftalmologia, 73(1), 92–95. 2010.
- [11] TURAJANE, T., AMPHANSAP, T., LABPIBOONPONG, V., et al. **Substituição total do joelho após ciclos repetidos de hialuronato de sódio intra-articular (500-730 KDa) no tratamento conservador da osteoartrite do joelho: um acompanhamento de 54 meses**. J Med Assoc. Thai. 92 (Supl. 6):S63-8. 2009.
- [12] SIDDAWAY, AP., WOOD, AM e HEDGES, LV. **Como fazer uma revisão sistemática: um guia de práticas recomendadas para conduzir e relatar revisões narrativas, meta-análises e meta-sínteses**. Revisão Anual de Psicologia, 70(1). 2018. doi:10.1146/annurev-psych-010418-102803
- [13] BREVIDELLI, MM; DE DOMENICO, EB. **Trabalho de conclusão de curso: guia prático para docentes e alunos da área da saúde**. 2a ed. São Paulo: Iátria; 2008

- [14] GIL, A. **Como elaborar projetos de pesquisa**. Atlas, São Paulo, 2007.
- [15] ERCOLE, Flávia Falci; MELO, Laís Samara de; ALCOFORADO, Carla Lúcia G. C. **Revisão integrativa versus revisão sistemática**. Reme.org.br, 18 mar. 2014. doi: 10.5935/1415-2762.20140001.
- [16] SAMPAIO, R.F., MANCINI, M.C. **Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica**, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1413-35552007000100013>
- [17] MEYER, K., PALMER, J. **The polysaccharide of the vitreous humor**. *Journal of Biological Chemistry*, 107, 629–634. 1934.
- [18] SELYANIN, Mikhail A.; BOYKOV, Petr Ya.; KHABAROV, Vladimir N.; POLYAK, Felix. **Hyaluronic Acid (Preparation, Properties, Application in Biology and Medicine)**. The History of Hyaluronic Acid Discovery, Foundational Research and Initial Use. 2015. doi:10.1002/9781118695920.ch1
- [19] KENDALL, F.E., HEIDELBERGER, M., DAWSON, M.H. **A serologically inactive polysaccharide elaborated by mucoid strains of group A hemolytic Streptococcus**. (“Kendall, F.E., Heidelberger, M. and Dawson, M.H. (1937) A serologically ...”) *Journal of Biological Chemistry*, 118, 61–69. 1937.
- [20] BALAZS, E.A., PILLER, L. **The formation of the synovial fluid**. *Magyar Orvosi Arch*, 44, 1–11.19. 1943.
- [21] DORFMAN, A. **The kinetics of the enzymatic hydrolysis of hyaluronic acid**. *Journal of Biological Chemistry*, 172 (2), 377–87. 1948.
- [22] OGSTON, A.G., STANIER, J.I. **The dimensions of the particle of hyaluronic acid complex in sinovial fluid**. *Biochemical Journal*, 49, 585–599. 1951.
- [23] LINKER, A., MEYER, K. **Production of unsaturated uronides by bacterial hyaluronidases**. *Nature*, 174, 1192–1194. 1954.
- [24] BALAZS, E.A., MILLER, D., STEGMANN, R. **Viscosurgery and Use the Use of Na-Hyaluronate in Intraocular Lens Implantation**. Presented at the International Congress and Film Festival on Intraocular Implantation, Cannes, France. 1979.

- [25] PIACQUADIO, D.; JARCHO, M.; GOLTZ, R. **Evolution of hylan b gel as a soft-tissue augmentation implant material**. J Am Acad Dermatol. v. 36, n. 4, p. 544-9. 1997.
- [26] JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11^a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 524p. 2008.
- [27] LUCAS, E. SOARES, B. MONTEIRO, E. **Caracterização de Polímeros**. Editora e-paper. Rio de Janeiro, 2001.
- [28] LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L. & COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6^a Ed. Editora Artmed, p 243-274. 2014.
- [29] PURCELL, BP; KIM, IL; CHUO, V, Guinen T, Dorsey SM, Burdick JA. Incorporação de macrômeros de ácido hialurônico sulfatado em andaimes de hidrogel degradáveis para entrega sustentada de moléculas. Biomater Sci. 2009;27:417–28.
- [30] KAKEHI, K.; KINOSHITA, M.; YASUEDA, S.; **“Hyaluronic acid: separation and biological implications (Review)”**. Journal of chromatography B; v. 797, p. 347-355, 2003.
- [31] YEUNG, R. W. K; CHOW, R. L. K; SAMMAN, N; CHIU, K. **Short-term therapeutic outcome of intra-articular high molecular weight hyaluronic acid injection for nonreducing disc displacement of the temporomandibular joint**. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology, 102(4), 453–461. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.09.018>
- [32] de OLIVEIRA, Igor Rodrigues; FONTES, Lorena Vasconcelos. **Roadmap Tecnológico do Ácido Hialurônico**. Projeto (BACHARELADO EM ENGENHARIA QUÍMICA). Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2020.
- [33] BRUNETTI, Franco. **Mecânica dos fluidos**. 2 ed. São Paulo, SP: Pearson, 2008.
- [34] SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. **Química Orgânica**, vol. 1, 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2001.
- [35] TAMMI, R. e TAMMI, M. em **“The Chemistry, Biology and Medical Applications of hyaluronan and its Derivatives”**; Laurent T. C. (ed); Wenner-Gren International Series, v. 72, Portland Press, Londres, 1998.

- [36] CHONG, B.F.; BLANK, L.M.; MCLAUGHLIN, R.; NIELSEN, L.K. **Microbial hyaluronic acid production**. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 66, n.4, p. 341-351, 2005.
- [37] PIRES, AMB., MACEDO, AC, EGUCHI SY, SANTANA MHA. **Microbial production of hyaluronic acid from agricultural resource derivatives**. *Bioresource Technol*, v. 101, p. 6506–6509, 2010.
- [38] HARTH, M. L; SARGO, C. R; SANTANA, M. H. A; ZANGIROLAMI, T. C; GIORDANO, R. C; HORTA, A. C. L. **Produção de ácido hialurônico: modelagem do cultivo de *Streptococcus zooepidemicus***. Blucher, p. 3486-3489. São Paulo.2018.
- [39] BORZANI, Walter. **Fermentação semicontínua**. *Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica*. Tradução. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.
- [40] PROPEQ, Projeto e Pesquisa em Engenharia Química. Contínuo ou batelada: “Qual processo escolher?”. 9, julho, 2020. Disponível em: <https://propeq.com/continuo-ou-batelada/?gclid=CjwKCAiAk-dBhABEiwAchIwkS1vxHvQPMPgX5o9riaPBhxsqZuyWgwYht5Luo8TGk3BWSxVKcAyWRoCymMQAvD_BwE>. Acesso em: 15 de novembro de 2022.
- [41] de OLIVEIR, JD; CARVALHO, LS; GOMES, AMV *et al.* **Base genética para hiperprodução de ácido hialurônico em microrganismos naturais e modificados**. *Microb Cell Fact* **15**, 119 (2016). <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0517-4>
- [42] LIMA, Urgel de Almeida; AQUARONE, Eugenio; BORZANI, W. *Tecnologia das Fermentação*. São Paulo, Ed. Blücher, 1983.
- [43] TORTORA, G.J. *et al.* *Microbiologia*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 827p., 2000.
- [44] IGNATOVA, E.Y., GUROV, A.N. **Principles of extraction and purification of hyaluronic acid. (In Russian)**. *Chemical-Pharmaceutical Journal*, 24 (3), 42–46,1990.
- [45] BALAZS, E.A. **Ultrapure hyaluronic acid and the use thereof**. United States Patent; n. 4.141.973, 27 de fevereiro de 1979.
- [46] HARTH, M. L; SARGO, C. R; SANTANA, M. H. A; ZANGIROLAMI, T. C; GIORDANO, R. C; HORTA, A. C. **Produção de ácido hialurônico: modelagem do cultivo de *Streptococcus zooepidemicus***. p. 3486-3489. In: São Paulo: Blucher, 2018.ISSN 2359-1757, DOI 10.5151/cobeq2018-PT.0920

- [47] VITACLIN, E. **Preenchimento com Ácido Hialurônico**. Estética Avançada. Disponível em: < <https://www.vitaclin.com.br/>>. Acessado em: Setembro de 2022
- [48] WULKAN, C. **Preenchimento e Harmonização Facial** Disponível em: <<https://clinicawulkan.com.br/>>. Acesso em: novembro de 2022.
- [49] ABIHPC (2021). **Panorama do Setor Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos**, ABIHPEC - Associação Brasileira da Indústria da Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos, abril de 2021, São Paulo. Disponível em: <<http://www.abihpec.org.br/>>. Acessado em: Outubro de 2022.
- [50] FERREIRA, Natália Ribeiro; CAPOBIANCO, M. P. **Uso do ácido hialurônico na prevenção do envelhecimento facial**. Revista Científica UNILAGO, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2016.
- [51] BARRICHELLO, B; SUZUKI, V; KUSTER, F; ABRAHÃO, F; DA SILVEIRA GONÇALVES, J; DEUTSCH, G; ELEINE WOLPE, R; ROCHA OLIVEIRA, C; MASAKO FERREIRA, L. Efeitos da administração oral do ácido hialurônico no envelhecimento cutâneo: uma revisão. **Revista Científica de Estética e Cosmetologia**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 39–43, 2021. DOI: 10.48051/rcec.v1i1.23. Disponível em: <https://rcec.com.br/journal/index.php/rcec/article/view/23>. Acesso em: 20 jan. 2023.
- [52] BELKIN, M; SAVION, N; LANDSHAMAN; N. **Preparations for the treatment of eyes**. United State Patent 5510329. 1996.
- [53] Médicos dos Olhos (2020). **Catarata: o que é, sintomas, diagnóstico e tratamento**. Disponível em: < <https://medicosdeolhos.com.br/catarata-o-que-e-sintomas-diagnostico-e-tratamento/>>. Acessado em: 8 de dezembro de 2022.
- [54] CHRIST, FR; ZALESKI, ER. **Methods for delivering viscoelastic material to an eye**. United State Patent 6254587. 2001.
- [55] GOLDBERG, RA; LEE, S; JAYASUNDERA, T; TSIRBAS, A; DOUGLAS, RS; MCCANN, JD. **Treatment of lower eyelid retraction by expansion of the lower eyelid with hyaluronic Acid gel**. Ophthal Plast Reconstr Surg. 2007.
- [56] STUART, JC, LINN, JG. **Dilute sodium hyaluronate (Healon) in the treatment of ocular surface disorders**. Ann Ophthalmol. 1985.

- [57] KUMMER, MP, ABBOTT, JJ, DINSE, S, NELSON, BJ. **Artificial vitreous humor for in vitro experiments.** Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2007
- [58] SILVA, A. L. P.; IMOTO, D. M., & CROCI, A. T. **Estudo comparativo entre a aplicação de crioterapia, cinesioterapia e ondas curtas no tratamento da osteoartrite de joelho.** Acta Ortopédica Brasileira, 15(4), 204–209. 2007. doi:10.1590/s1413-78522007000400006
- [59] NAHAS, RM; PORTO, LCK; IKELMOTO, RY; TOWNÓRIO, FA; ZILIO, G; COSTA, RA; MONTENEGRO, TB. **Viscossuplementação no tratamento de artrite pós-traumática de joelho durante 12 meses.** Revista Brasileira de Medicina do Esporte, 22(6), 465-470. 2016 doi:10.1590/1517-869220162206167840
- [60] MIGLIORE, A; PROCOPIO, S. **Effectiveness and utility of hyaluronic acid in osteoarthritis.** Clin Cases Miner Bone Metab. 2015 Jan-Apr;12(1):31-3. doi: 10.11138/ccmbm/2015.12.1.031. PMID: 26136793; PMCID: PMC4469223
- [61] ARMSTRONG, DC; JOHNS, MR. **Culture conditions affect the molecular weight properties of hyaluronic acid produced by *Streptococcus zooepidemicus*.** Appl. Environ. Microbiol. 1997;63:2759–64.